双委夜蛾不同虫态耐寒性及体内生化物质含量变化

郭婷婷[1]，于志浩[2]，门兴元[1]，于　毅[1]，郑长英[2]，孙廷林[1]，
张思聪[1]，李丽莉[1,*]

（1. 山东省农业科学院植物保护研究所，山东省植物病毒学重点实验室，济南 250100；
2. 青岛农业大学植物保护学院，山东青岛 266000）

摘要：【目的】探索双委夜蛾 *Athetis dissimilis* (Hampson)的耐寒策略及越冬虫态。【方法】以室内双委夜蛾种群为虫源，分别测定3龄、4龄、5龄、6龄和老熟幼虫以及蛹的过冷却点(supercooling point, SCP)、结冰点(freezing point, FP)、含水量以及脂肪、蛋白质、甘油、山梨醇和海藻糖含量。【结果】不同龄期幼虫和蛹之间过冷却点和结冰点存在显著差异，低龄幼虫 SCP 和 FP 较高；随着龄期增长，二者均降低，老熟幼虫的 SCP 和 FP 最低，分别为 -18.20℃和 -11.72℃。不同龄期幼虫和蛹的生化物质含量均存在显著差异。随着龄期的增加，含水量和甘油含量呈降低的趋势，蛹的含水量(65.33%)和甘油含量(154.90 μg/mg)最低；脂肪和蛋白质含量随龄期的增加呈现增加的趋势，蛹的脂肪和蛋白质含量最高，分别为25.36%和2 298.37 μg/mg。老熟幼虫海藻糖含量相对较高(57.28 mg/g)，而山梨醇含量较低(15.49 mg/g)。【结论】与其他龄期相比，双委夜蛾老熟幼虫和蛹的耐寒性最强，是最可能的越冬虫态；脂肪、蛋白质和海藻糖可能是双委夜蛾重要的耐寒物质。

关键词：双委夜蛾；越冬虫态；耐寒性；耐寒物质；过冷却点

中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2016)12-1291-07

Cold tolerance and changes in the contents of biochemical substances in different developmental stages of *Athetis dissimilis* (Lepidoptera: Noctuidae)

GUO Ting-Ting[1], YU Zhi-Hao[2], MEN Xing-Yuan[1], YU Yi[1], ZHENG Chang-Ying[2], SUN Ting-Lin[1], ZHANG Si-Cong[1], LI Li-Li[1,*] (1. Key Laboratory for Plant Virology of Shandong, Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 2. College of Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266000, China)

Abstract: 【Aim】This study aims to explore the cold tolerance strategies and overwintering stage of *Athetis dissimilis* (Hampson). 【Methods】The supercooling point (SCP), freezing point (FP), and the contents of water, fat, protein, glycerin, sorbitol and trehalose in the 3rd, 4th, 5th, 6th instar and mature larvae, and pupae of *A. dissimilis* were measured in the laboratory. 【Results】The SCP and FP had obvious differences among different instar larvae of *A. dissimilis*, and the SCP and FP of young larvae were higher than those of old larvae. The SCP and FP of mature larvae dropped to the lowest (-18.20℃ and -11.72℃, respectively). There were significant differences in the contents of biochemical substances between different instar larvae. The water and glycerin contents declined with the increase of developmental stage. The lowest water and glycerin contents were found in pupae (65.33% and 154.90 μg/mg, respectively). There was a trend of increase of fat and protein contents with the increase of

基金项目：国家公益性行业科研项目(201303026)；国家科技支撑计划课题(BAD19B04-09)
作者简介：郭婷婷，女，1988年3月生，山东济南人，硕士，助理研究员，研究方向为昆虫生理生态与害虫综合治理，E-mail：gtthhz@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：zbsli3@163.com
收稿日期 Received：2016-08-12；接受日期 Accepted：2016-11-28

developmental stage. The fat and protein contents in pupae (25.36% and 2 298.37 μg/mg, respectively) were higher than those in larval stages. The trehalose content in mature larvae was relatively high (57.28 mg/g), while the sorbitol content was relatively low (15.49 mg/g).【Conclusion】The strongest two cold-tolerant stages of *A. dissimilis* were mature larva and pupa, which may be more suitable for overwintering than other developmental stages. Fat, protein and trehalose may be the important cold-resistant substances in *A. dissimilis*.

Key words: *Athetis dissimilis*; overwintering stage; cold tolerance; cold-resistant substances; supercooling point

双委夜蛾 *Athetis dissimilis* (Hampson)属鳞翅目夜蛾科,是近年来新发现的农业害虫。2012 年在山东威海玉米田首次发现,2013 年 9 月下旬在德州大葱和杂草田再次发现大量幼虫(李静雯等, 2014)。目前在山东、河南、陕西、安徽等地发现其发生,可危害小麦、玉米、大豆、花生、甘薯等作物,常与二点委夜蛾 *Athetis lepigone* (Moschler)混合发生(李静雯等, 2014; 宋月芹等, 2015)。其危害特点与二点委夜蛾相似,常隐藏于作物秸秆、落叶、杂草等下面,给防治带来极大的困难。

对昆虫来说,在复杂的自然环境中如何抵御冬季低温顺利越冬,是其生存和繁衍的重要前提,耐寒性的强弱决定着昆虫种群的存在与发展(景晓红和康乐, 2002; 崔双双和贺一原, 2011)。在长期的进化过程中,昆虫形成了其固定的越冬虫态。夜蛾科的昆虫多以幼虫或蛹越冬,如亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée)、冬麦穗夜蛾 *Apamea sordida* Schiff 以幼虫越冬(章世美和章志英, 1986; 张洪刚等, 2010),稻螟蛉 *Naranga aenescens* Moore、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner)以蛹越冬(章世美和章志英, 1986; 江幸福等, 2001)。一般情况下,越冬虫态耐寒性最强,休眠或滞育期耐寒力次之,而发育中的虫态耐寒能力较差(崔双双和贺一原, 2011),因此可以根据耐寒能力的高低进行越冬虫态的一般判断。在昆虫耐寒性研究中,过冷却点(supercooling point, SCP)和结冰点(freezing point, FP)常作为判断昆虫的耐寒性的重要指标(欧阳芳和戈峰, 2014)。马继芳等(2011)根据过冷却点初步推断华北地区二点委夜蛾主要以老熟幼虫作茧越冬,与田间调查结果以老熟幼虫在地表结茧越冬相符(张海剑等, 2012; 马继芳等, 2012)。昆虫在适应低温、抵抗冬季寒冷的过程中也形成了完善的生理生化策略。已有报道显示,越冬昆虫体内的水、脂肪、甘油、山梨醇、氨基酸、蛋白质等物质含量也与耐寒性关系密切(冯宇倩等, 2014; 欧阳芳和戈峰, 2014)。

双委夜蛾被发现时间短,相关研究几乎为零。与二点委夜蛾相比,其幼虫龄期更多、食量更大,成虫繁殖力更强(李静雯等, 2014),一旦暴发,应比二点委夜蛾引起的危害更严重。为此,本研究以室内双委夜蛾种群为虫源,分别测定了 3 龄、4 龄、5 龄、6 龄和老熟幼虫以及蛹期的过冷却点和结冰点,并测定了各个龄期幼虫和蛹体内生化物质含量,分析耐寒性与体内生化物质含量的关系,旨在研究明确双委夜蛾耐寒性,为该虫进一步研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

双委夜蛾为室内连续饲养 6 代的实验种群,在室温为 26 ± 1℃、RH 70% ± 10%、光周期 16L:8D 的人工气候室中饲养。选取同一批次健康卵作为供试虫源。幼虫孵化后,将其单头置于指形玻璃管(7 cm × 2 cm)内,饲喂人工饲料(以麦麸、麦芽粉为主要成分,添加大豆粉、玉米粉、蛋白胨等其他辅料组成),取不同龄期的健康幼虫和蛹开展试验。

1.2 过冷却点及结冰点的测定

分别取发育一致的 3 龄、4 龄、5 龄、6 龄和老熟幼虫以及蛹,根据热电偶的原理进行过冷却点和结冰点的测定。试验所用仪器为 SUN-II 型智能昆虫过冷却点测定仪。测定时,将热敏电阻的测温探头固定在双委夜蛾虫体的腹部,置于低温槽(-20℃的冰箱)内。虫体温度的变化由数据采集器采集后输入计算机,软件自动记录、分析数据,并绘出温度变化曲线图。从数据中可读出虫体的过冷却点值和结冰点值。

1.3 含水量的测定

分别取发育进度一致的 3, 4, 5, 6 龄和老熟幼虫以及蛹,置于万分之一电子天平(Ohaus 奥豪斯电子天平 CP214)上称得鲜重(fresh weight, FW),然后在 60℃的恒温烘箱中烘干 48 h 至恒重,称得干重

(dry weight, DW),计算虫体含水量。

虫体含水量(%) = [(FW - DW)/FW] ×100%。

1.4 生化物质含量测定

脂肪含量测定:参考王鹏等(2011)的方法进行。取测完含水量的双委夜蛾单头试虫,加入 2 mL 氯仿与甲醇的混合液(氯仿: 甲醇 = 2: 1, v/v),研磨至匀浆。在转速 2 600 r/min 下离心 10 min,并移去上层清液。向残渣中加入 2 mL 氯仿与甲醇的混合液,重复离心 1 次。剩余残渣在 60℃ 的恒温烘箱中烘烤 72 h 至恒重(constant dry weight, CDW)。计算脂肪含量。

脂肪含量 = [(DW - CDW)/FW] ×100%。

甘油含量测定:参考张拥军(2007)的方法测定甘油标准曲线和虫体甘油含量。计算公式如下:

虫体甘油含量(μg/mg) = [从标准曲线查得的甘油含量(μg/mL) ×样品稀释量(mL)]/虫体质量(mg)。

海藻糖含量测定:采用蒽酮比色法测定,海藻糖与蒽酮反应,溶液呈蓝绿色,在 620 nm 处有最大吸收峰。

蛋白质含量测定:采用考马斯亮蓝比色法(Bradford 法)测定,蛋白质在酸性溶液中与考马斯亮蓝 G-250 结合,在 595 nm 处有吸收高峰。

山梨醇含量测定:采用分光光度法,山梨醇在碱性溶液中与铜离子形成蓝色络合物,在 655 nm 波长有特征吸收峰。以上 3 种物质含量均选用苏州科铭生物技术有限公司生产的微量法试剂盒进行测定,在 EMaxPlus Molecular Devices 酶标仪〔美谷分子仪器(上海)有限公司生产〕上进行。

1.5 数据处理

采用 SPSS 19.0 对试验数据进行单因素方差分析,用 Tukey 氏法进行多重比较,显著水平 P = 0.05,使用 Excel 2007 绘制图表。

2 结果

2.1 双委夜蛾幼虫和蛹的过冷却点与结冰点

从图 1 可以看出,不同龄期幼虫和蛹之间过冷却点存在显著差异(F = 24.12, df = 5,174, P < 0.05)。4 龄幼虫的过冷却点最高,为 -9.60℃;老熟幼虫的过冷却点最低,为 -18.20℃。不同龄期幼虫和蛹的结冰点差异显著(F = 14.73, df = 5,174, P < 0.05)。4 龄幼虫的结冰点最高,为 -5.59℃;老熟幼虫最低,为 -11.72℃。过冷却点和结冰点的变化趋势大致相同,随着龄期的增长,二者均降低,低龄幼虫较高,老熟幼虫最低。

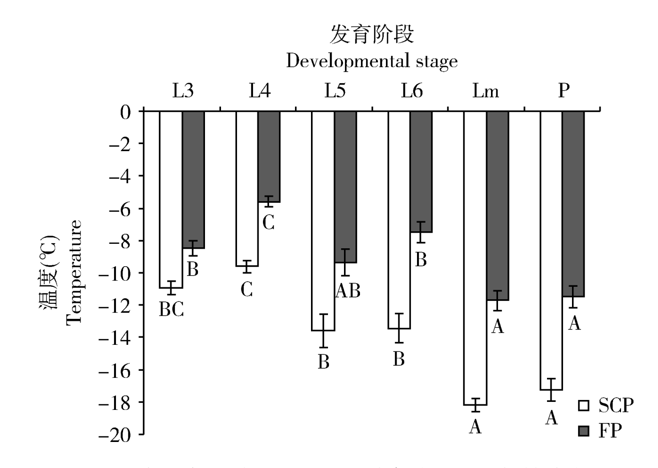


图 1 双委夜蛾各龄幼虫和蛹的过冷却点(SCP)与结冰点(FP)
Fig. 1 Supercooling point (SCP) and freezing point (FP) of different instar larvae and pupae of *Athetis dissimilis*

L3: 3 龄幼虫 3rd instar larva; L4: 4 龄幼虫 4th instar larva; L5: 5 龄幼虫 5th instar larva; L6: 6 龄幼虫 6th instar larva; Lm: 老熟幼虫 Mature larva; P: 蛹 Pupa. 图中同一指标不同字母表示用 Tukey 氏法进行多重比较后差异显著(P < 0.05)。Different letters for the same index indicate significant difference at the 0.05 level by Tukey's multiple comparisons. 下图同 The same for the following figures.

2.2 双委夜蛾幼虫和蛹体内含水量

图 2 为不同龄期双委夜蛾幼虫和蛹的含水量。结果表明,双委夜蛾各龄期幼虫和蛹的含水量存在显著差异(F = 290.22, df = 5,174, P < 0.05),随着龄期的增长含水量降低。其中 3 - 6 龄幼虫体内含水量均高于 83%,蛹的含水量最低(65.33%)。

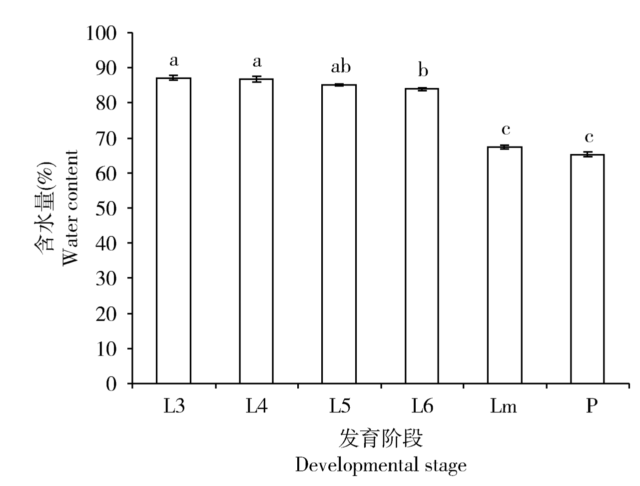


图 2 双委夜蛾各龄幼虫和蛹体内的含水量
Fig. 2 Water contents in different instar larvae and pupae of *Athetis dissimilis*

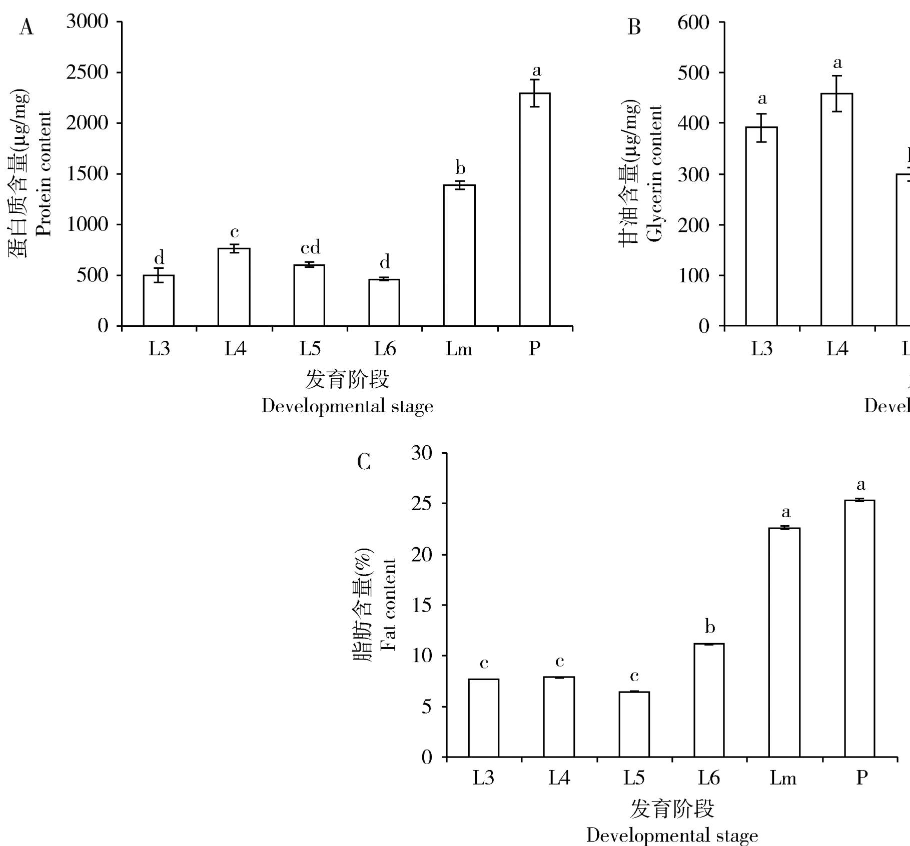
2.3 双委夜蛾幼虫和蛹体内蛋白质、甘油和脂肪含量

由图 3(A)可以看出,双委夜蛾蛹期蛋白质含量

最高为 2 298.37 μg/mg，老熟幼虫次之，为 1 390.74 μg/mg，其他龄期幼虫蛋白质含量均低于 800 μg/mg，且不同龄期间差异显著（$F = 117.399$，$df = 5, 174$，$P < 0.05$）。

双委夜蛾不同龄期幼虫和蛹之间甘油含量同样存在显著差异（$F = 24.94$，$df = 5, 174$，$P < 0.05$）（图 3：B）。其中 4 龄幼虫甘油含量最高，为 457.95 μg/mg；3 龄幼虫次之，为 391.20 μg/mg；5 龄、6 龄和老熟幼虫含量接近；而蛹期甘油含量最低，为 154.90 μg/mg。

不同龄期双委夜蛾幼虫和蛹的脂肪含量差异显著（$F = 122.00$，$df = 5, 174$，$P < 0.05$）（图 3：C）。随着龄期的增长，双委夜蛾脂肪含量呈现增加的趋势，3 - 5 龄幼虫脂肪含量均低于 8%，6 龄幼虫脂肪含量增加到 10% 以上，老熟幼虫和蛹体内脂肪含量均高于 20%，其中蛹体内的脂肪含量最高，达到 25.36%，老熟幼虫体内脂肪含量达到 22.64%。



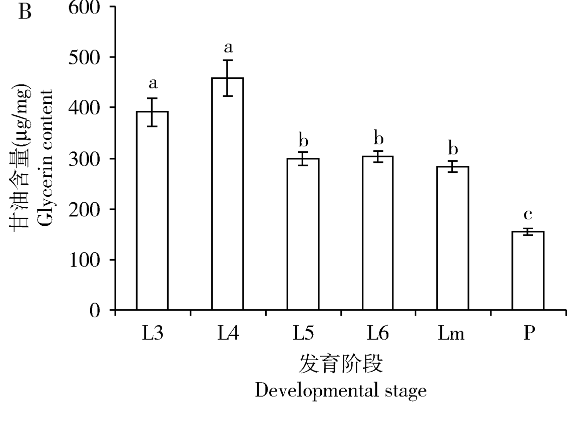


图 3 双委夜蛾各龄幼虫和蛹体内蛋白质（A）、甘油（B）和脂肪（C）含量

Fig. 3 Contents of protein (A), glycerin (B) and fat (C) in different instar larvae and pupae of *Athetis dissimilis*

2.4 双委夜蛾幼虫和蛹体内山梨醇与海藻糖含量

从图 4（A）可以看出，双委夜蛾不同龄期幼虫体内山梨醇含量也存在显著差异（$F = 67.39$，$df = 5, 174$，$P < 0.05$）。其中 4 龄幼虫体内山梨醇含量最高，含量为 43.64 mg/g，5 龄和 3 龄幼虫次之，6 龄幼虫和蛹的山梨醇含量最低分别为 10.18 mg/g 和 10.50 mg/g。

双委夜蛾各龄期海藻糖含量（图 4：B）结果显示，3 龄幼虫海藻糖含量最高，为 67.15 mg/g；老熟幼虫含量次之，为 57.28 mg/g；4 龄幼虫含量最低为 27.40 mg/g；且不同处理间差异显著（$F = 43.78$，$df = 5, 174$，$P < 0.05$）。

3 讨论

3.1 双委夜蛾越冬虫态

过冷却点通常被认为是一类昆虫能存活的最低温度（Baust and Rojas，1985），因此，也被认为是衡量昆虫耐寒性的一项重要指标（景晓红和康乐，2004；Khani and Moharramipour，2010）。很多昆虫不同虫龄之间过冷却点不同。江幸福等（2001）发现，甜菜夜蛾各虫态的过冷却点从高到低依次为幼虫 < 预蛹 < 蛹，其耐寒能力由弱至强为卵 < 成虫 < 幼虫 < 蛹，由此判断蛹是最可能的越冬虫态，多数的

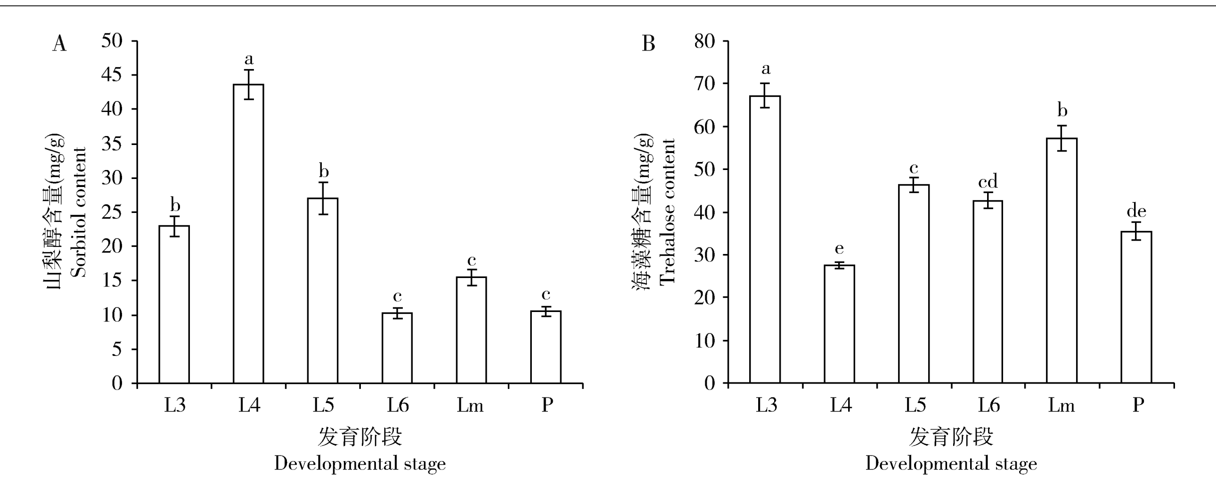


图 4　双委夜蛾各龄幼虫和蛹体内山梨醇(A)与海藻糖(B)含量

Fig. 4　Contents of sorbitol (A) and trehalose (B) in different instar larvae and pupae of *Athetis dissimilis*

报道也证实甜菜夜蛾可以以蛹越冬(江幸福和罗礼智, 1999; 韩兰芝等, 2003)。对旋幽夜蛾 *Scotogramma trifolii* Rottemberg 蛹、幼虫和成虫的过冷却点测定结果显示蛹的过冷却点最低(平均 −23.67℃),与旋幽夜蛾以蛹在地下越冬的习性相符(赵琦等, 2011)。马继芳等(2011)发现,二点委夜蛾预蛹和正常作茧的老熟幼虫相比,低温处理后结茧的老熟幼虫过冷却点和结冰点最低,分别为 −25.35℃和 −9.98℃,并由此推测二点委夜蛾越冬的主要虫态为结茧的老熟幼虫,这在张海剑等(2012)的二点委夜蛾的越冬调查中也得到证实。本研究发现,随着虫龄的增长,双委夜蛾过冷却点和结冰点均表现出降低的趋势,变幅在 −9.60℃(4 龄幼虫) ~ −18.20℃(老熟幼虫)之间,老熟幼虫和蛹的过冷却点和结冰点最低,且无显著差异,可见双委夜蛾最适宜的越冬虫态可能是老熟幼虫或蛹。

3.2　双委夜蛾耐寒策略及体内抗寒物质

昆虫是变温动物,为适应低温、抵抗冬季寒冷,通过调整自身生理生化物质的变化形成了完善的耐寒策略(Zachariassen, 1985)。在昆虫越冬或滞育前期,水分含量减少,如二化螟 *Chilo supperssalis* (Walker)(张拥军, 2007)、桃小食心虫 *Carposina niponensis* Walsingham (王鹏等, 2011)、桑螟 *Diaphania pyloalis* Walker (陈永杰等, 2005)等昆虫在越冬初期,体内总含水量下降,促使昆虫过冷却点和结冰点降低,耐寒性增强。蒋智林等(2009)研究发现,不同世代间甘薯天蛾 *Agrius convolvuli* 幼虫的过冷却点没有明显差异,而越冬代蛹的过冷却点有着极为明显的下降,同时发现越冬态蛹的含水量比其他世代的幼虫和蛹的含水量都低,越冬态蛹的耐寒性最强。本研究发现,双委夜蛾 4 龄幼虫到老熟幼虫的含水量逐渐降低,老熟幼虫含水量最低,同时其冷却点和结冰点也最低,此阶段耐寒性最强,这与蒋智林等(2009)的研究结果类似,可见双委夜蛾幼虫过冷却点和水分含量之间也有非常密切的内在联系。

昆虫在越冬初期会积累一定量的抗冻保护物质,这些物质可以增加结合水含量,或与昆虫体内抗冻蛋白作用,使昆虫能够抵抗冬季的低温(冯宇倩等, 2014)。张拥军(2007)发现,二化螟越冬初期体内积累蛋白质,减少糖原等能源物质以提高耐寒性;大草蛉 *Chrysopa pallens* (Rambur)进入越冬后体内积累脂肪,而蛋白质和可溶性糖含量呈现不同程度下降(于令媛等, 2012);李庆等(2008)发现西藏飞蝗 *Locusta migratoria tibetensis* Chen 体内糖原、脂肪和甘油参与了过冷却点的调节。本研究发现双委夜蛾老熟幼虫和蛹的脂肪和蛋白质含量最高,而这两个龄期过冷却点和结冰点最低,因此脂肪和蛋白质应该是双委夜蛾的抗冻保护物质。

抗冻小分子糖醇物质是昆虫体内重要的耐寒物质,目前已知的有海藻糖、果糖、葡萄糖、山梨醇、甘露醇、五碳多元醇、甘油、氨基酸和脂肪酸等(Li *et al*., 2001; Li, 2012; 冯宇倩等, 2014; 欧阳芳和戈峰, 2014)。研究发现,不同昆虫体内参与耐寒性的小分子糖醇物质不同,如参与桑尺蠖 *Phthonandria atrilinaeata* Butler 越冬幼虫耐寒性的是小分子糖-氨基酸-糖蛋白(孙绪艮等, 2000),而参与赤松毛虫 *Dendrolimus spectabilis* Butler 越冬幼虫耐寒性的是小分子碳水化合物-糖蛋白-氨基酸(韩瑞东等, 2005)。本研究发现,双委夜蛾 4 龄幼虫到蛹的甘油

含量逐渐降低,山梨醇含量有降低的趋势,海藻糖含量呈现上升的趋势,而此阶段过冷却点和结冰点呈下降的趋势,由此推测甘油与山梨醇没有参与双委夜蛾过冷却点的调节或者转化为其耐寒物质,海藻糖可能是双委夜蛾体内重要的耐寒小分子糖醇物质。

3.3 结语

双委夜蛾属于新发现的农业害虫,本研究仅在实验室内对其越冬虫态及耐寒性进行初步分析,其越冬虫态及耐寒系统还需要进一步的验证与研究。

参考文献 (References)

Baust JG, Rojas RR, 1985. Review - Insect cold hardiness: facts and fancy. *J. Insect Physiol.*, 31(10): 755 - 759.

Chen YJ, Sun XG, Zhang WG, Guo YY, Mu ZG, Guo GZ, 2005. Relationship between variation of protein, amino acid, low-molecular carbohydrate in over-wintering *Diaphania pyloalis* Walker larvae and cold-hardiness. *Science of Sericulture*, 31(2): 111 - 116. [陈永杰, 孙绪艮, 张卫光, 郭彦彦, 牟志刚, 郭光智, 2005. 桑螟越冬幼虫体内蛋白质、氨基酸、碳水化合物的变化与抗寒性的关系. 蚕业科学, 31(2): 111 - 116]

Cui SS, He YY, 2011. Insect cold hardiness and the influencing factors. *Life Science Research*, 15(3): 273 - 276. [崔双双, 贺一原, 2011. 昆虫的耐寒性及其影响因素. 生命科学研究, 15(3): 273 - 276]

Feng YQ, Wang JL, Zong SX, 2014. Review of insects overwintering stages and cold-resistance strategies. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30(9): 22 - 25. [冯宇倩, 王锦林, 宗世祥, 2014. 昆虫越冬虫态及耐寒策略概述. 中国农学通报, 30(9): 22 - 25]

Han LZ, Zhai BP, Zhang XX, Gu BL, Shi WX, 2003. Occurrence and damages of beet armyworm populations in vegetable crops in Taicang. *Entomological Knowledge*, 40(2): 136 - 140. [韩兰芝, 翟保平, 张孝羲, 顾伯良, 施文贤, 2003. 甜菜夜蛾在太仓菜田的发生与危害特征. 昆虫知识, 40(2): 136 - 140]

Han RD, Sun XG, Xu YY, Zhang WG, 2005. The biochemical mechanism of cold-hardiness in overwintering larva of *Dendrolimus spectabilis* Butler (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Acta Ecologica Sinica*, 25(6): 1352 - 1356. [韩瑞东, 孙绪艮, 许永玉, 张卫光, 2005. 赤松毛虫越冬幼虫生化物质变化与抗寒性的关系. 生态学报, 25(6): 1352 - 1356]

Jiang XF, Luo LZ, 1999. Cause of outbreak and control measures of *Spodoptera exigua*. *Plant Protection*, 25(3): 32 - 33. [江幸福, 罗礼智, 1999. 甜菜夜蛾暴发原因及防治对策. 植物保护, 25(3): 32 - 33]

Jiang XF, Luo LZ, Li KB, Zhao TC, Hu Y, 2001. A study on the cold hardiness of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Acta Ecologica Sinica*, 21(10): 1575 - 1582. [江幸福, 罗礼智, 李克斌, 赵廷昌, 胡毅, 2001. 甜菜夜蛾抗寒与越冬能力研究. 生态学报, 21(10): 1575 - 1582]

Jiang ZL, Wen LZ, Li YZ, Li ZY, 2009. Relationship between the supercooling point and the biochemical components of *Agrius convolvuli*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 46(2): 294 - 297. [蒋智林, 文礼章, 李有志, 李正跃, 2009. 甘薯天蛾过冷却点变化与生化成分的关系. 昆虫知识, 46(2): 294 - 297]

Jing XH, Kang L, 2002. Research progress in insect cold hardiness. *Acta Ecologica Sinica*, 22(12): 2202 - 2207. [景晓红, 康乐, 2002. 昆虫耐寒性研究. 生态学报, 22(12): 2202 - 2207]

Jing XH, Kang L, 2004. Overview and evaluation of research methodology for insect cold hardiness. *Entomological Knowledge*, 40(1): 7 - 10. [景晓红, 康乐, 2004. 昆虫耐寒性的测定与评价方法. 昆虫知识, 40(1): 7 - 10]

Khani A, Moharramipour S, 2010. Cold hardiness and supercooling capacity in the overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *J. Insect Sci.*, 10(1): 581 - 595.

Li JW, Yu Y, Zhang AS, Men XY, Zhou XH, Zhai YF, Zhuang QY, Wang ZY, Li LL, 2014. Morphologically alike species of *Athetis lepigone* (Möschler) - *Athetis dissimilis* (Hampson) found in Shandong Province of China. *Plant Protection*, 40(6): 193 - 195. [李静雯, 于毅, 张安盛, 门兴元, 周仙红, 翟一凡, 庄乾营, 王振营, 李丽莉, 2014. 山东省发现二点委夜蛾近似种——双委夜蛾. 植物保护, 40(6): 193 - 195]

Li NG, 2012. Relationships between cold hardiness and ice nucleating activity, glycerol and protein contents in the hemolymph of caterpillars, *Aporia crataegi* L. *CryoLetters*, 33(2): 134 - 142.

Li Q, Wang SZ, Feng CH, Zhang M, Jiang F, Yang G, Luo LM, 2008. The physiological and biochemical indexes of the cold-hardiness of *Locusta migratoria tibetensis* Chen. *Acta Ecologica Sinica*, 28(3): 1314 - 1320. [李庆, 王思忠, 封传红, 张敏, 蒋凡, 杨刚, 罗林明, 2008. 西藏飞蝗(*Locusta migratoria tibetensis* Chen)耐寒性理化指标. 生态学报, 28(3): 1314 - 1320]

Li YP, Goto M, Ito S, Sato Y, Sasaki K, Goto N, 2001. Physiology of diapause and cold hardiness in the overwintering pupae of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) in Japan. *J. Insect Physiol.*, 47(10): 1181 - 1187.

Ma JF, Wang YQ, Li LT, Jiang JY, Gan YJ, Dong ZP, 2012. The field investigation before winter and overwintering stage of *Athetis lepigone*. *China Plant Protection*, 32(1): 28 - 30. [马继芳, 王玉强, 李立涛, 姜京宇, 甘耀进, 董志平, 2012. 二点委夜蛾冬前田间调查及越冬虫态研究简报. 中国植保导刊, 32(1): 28 - 30]

Ma JF, Wang YQ, Li LT, Liu L, Gan YJ, Dong ZP, 2011. Study on supercooling points and overwintering stage of *Athetis lepigone*. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 15(9): 1 - 3. [马继芳, 王玉强, 李立涛, 刘磊, 甘耀进, 董志平, 2011. 二点委夜蛾过冷却点测定及越冬虫态分析. 河北农业科学, 15(9): 1 - 3]

Ouyang F, Ge F, 2014. Methodology of measuring and analyzing insect cold hardiness. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1646 - 1652. [欧阳芳, 戈峰, 2014. 昆虫抗冻耐寒能力的测定与分析方法. 应用昆虫学报, 51(6): 1646 - 1652]

Song YQ, Li WL, Liu ST, Sun HZ, Shi J, Dong JF, 2015. Cloning, molecular characteristics and expression pattern of the olfactory receptor co-receptor gene of *Athetis dissimilis*. *Journal of Plant

Protection, 42(6): 997－1003. [宋月芹, 李文亮, 刘顺通, 孙会忠, 石洁, 董钧锋, 2015. 双委夜蛾非典型嗅觉受体 Orco 的克隆、分子特征及表达. 植物保护学报, 42(6): 997－1003]

Sun XG, Guo HL, Li ST, Wang XH, 2000. Study on cold hardiness of overwintering larvae, *Phthonandria atrilineata* Butler. *Science of Sericulture*, 26(3): 129－132. [孙绪艮, 郭慧玲, 李恕廷, 王兴华, 2000. 桑尺蠖越冬幼虫的耐寒性研究. 蚕业科学, 26(3): 129－132]

Wang P, Yu Y, Men XY, Zhang SC, Zhang AS, Xu YY, Li LL, 2011. Dynamics of cold-resisitant substances in overwintering cocooned and non-cocooned larvae of the peach fruit moth, *Carposina niponensis* Walsingham (Lepidoptera: Carposinidae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(3): 279－285. [王鹏, 于毅, 门兴元, 张思聪, 张安盛, 许永玉, 李丽莉, 2011. 越冬过程中桃小食心虫结茧和裸露幼虫体内耐寒物质动态变化. 昆虫学报, 54(3): 279－285]

Yu LY, Shi AJ, Zheng FQ, Lu H, Zhang F, Xu YY, 2012. Seasonal changes in the cold hardiness of *Chrysopa pallens* (Rambur) prepupa. *Scientia Agricutura Sinica*, 45(9): 1723－1730. [于令媛, 时爱菊, 郑方强, 卢虹, 张帆, 许永玉, 2012. 大草蛉预蛹耐寒性的季节性变化. 中国农业科学, 45(9): 1723－1730]

Zachariassen KE, 1985. Physiology of cold tolerance in insects. *Physiol. Reviews*, 65(4): 799－832.

Zhang HG, Lu X, He KL, Wang ZY, 2010. Cold hardiness and the strategies of *Ostrinia furnacalis* survival at supercooled temperature. *Acta Phytophylacica Sinica*, 37(5): 398－402. [张洪刚, 鲁新, 何康来, 王振营, 2010. 亚洲玉米螟抗寒及低温生存对策. 植物保护学报, 37(5): 398－402]

Zhang HJ, Shi J, Wang ZY, Qin YY, 2012. Preliminary investigation of the overwintering developmental stage of *Athetis lepigone* and the special distribution in overwintering sites. *Plant Protection*, 38(3): 146－150. [张海剑, 石洁, 王振营, 秦艳宇, 2012. 二点委夜蛾越冬虫态及其在越冬场所的空间分布调查初报. 植物保护, 38(3): 146－150]

Zhang SM, Zhang ZY, 1986. About the hibernant stage and location of noctuids (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, (S3): 34－37. [章士美, 章志英, 1986. 夜蛾科昆虫的越冬虫态及其场所. 江西农业大学学报, (S3): 34－37]

Zhang YJ, 2007. Studies on the Cold Hardiness and Mechanism of Overwintering Larva of *Chilo supperssalis* (Walker). MSc Thesis, Central China Agricultural University, Wuhan. [张拥军, 2007. 二化螟越冬幼虫耐寒性及其机理研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文]

Zhao Q, Zhang YH, Han EB, Liu H, Cheng DF, 2011. The supercooling point of different stages of the clover cutworm, *Scotogramma trifolii*. *Plant Protection*, 37(2): 63－66. [赵琦, 张云慧, 韩二宾, 刘怀, 程登发, 2011. 旋幽夜蛾各虫态的过冷却点测定. 植物保护, 37(2): 63－66]

(责任编辑: 赵利辉)